

平成 25 年 10 月 25 日

独立行政法人国立成育医療研究センターから申請のあった
ヒト幹細胞臨床研究実施計画に係る意見について

ヒト幹細胞臨床研究に関する
審査委員会

委員長 永井良三

独立行政法人国立成育医療研究センターから申請のあった下記のヒト幹細胞臨床研究実施計画について、本審査委員会で検討を行い、その結果を別紙のとおりとりまとめたので報告いたします。

記

1. 自己骨髄間葉系細胞移植による末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病・膠原病）への血管再生治療

申請者：独立行政法人国立成育医療研究センター 総長 五十嵐 隆

申請日：平成 24 年 8 月 21 日

1. ヒト幹細胞臨床研究実施計画の概要

研究課題名	自己骨髄間葉系細胞移植による末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病・膠原病）への血管再生治療
申請年月日	平成24年8月21日
実施施設及び研究責任者	実施施設：国立成育医療研究センター 研究責任者：梅澤 明弘
対象疾患	慢性閉塞性動脈硬化症、バージャー病、膠原病による重症虚血下肢
ヒト幹細胞の種類	自己骨髄間葉系細胞
実施期間及び対象症例数	大臣了承日から2016年12月31日、10症例
治療研究の概要	重症化した末梢動脈疾患患者より、骨髄を少量採取し間葉系細胞を培養増幅し、虚血下肢に移植し、安全性と治療効果とを評価する。当施設では細胞培養を担当する。
その他（外国での状況等）	小動物だけでなく、ウサギモデルにおいても2012年に培養骨髄間葉系幹細胞の移植により血管新生効果が報告された。また中国において2011年に、培養骨髄間葉系幹細胞によるヒトでの臨床研究において有効性が示されている。
新規性について	培養骨髄間葉系細胞を血管再生療法に用いることに新規性がある。

2. ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会における審議概要（○）と主な変更内容（●）

0) 審査回数

3回（平成24年9月、11月、平成25年3月）

1) 第1回審議

①開催日時：平成24年9月19日（月）10:00～12:30

（第22回 ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会）

②議事概要

平成24年8月21日付けで独立行政法人国立成育医療研究センターから申請のあったヒト幹細胞臨床研究実施計画（対象疾患：重症虚血肢）について、申請者からの提出資料を基に、指針への適合性に関する議論が行われた。

各委員からの疑義・確認事項については、事務局で整理の上申請者に確認を依頼することとし、その結果を基に再度検討することとした。

（本審査委員会からの主な疑義・確認事項）

2. 品質・安全性について

○ どのくらい培養を続けるのか。打ち切り基準も示してください。

- 「初期培養（約1週間）で細胞数が2倍にならないのであれば、最終的な規定細胞数を確保することが難しいため、培養作業を中止する。更に、最長1カ月間の培養で、規定の細胞数にならない場合は、培養を打ち切る。」との返答を得た。

4. CPCについて

○ 各管理区域の室圧について「++」や「±」などで示されているが、具体的にどの程度の室圧になっているのか数値で示して頂きたい。

- 「製造管理基準書を修正して、室圧を数値で示しました。」との返答を得た。

○ 試薬や資材について、安全性や無菌性がすべて保証されている製品を使用

しているか。

- 「資材、培地、試薬リストを提示します。」との返答を得た。

2) 第2回審議

- ①開催日時： 平成24年11月26日（水）17:00～19:00
（第23回 ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会）

②議事概要

平成24年8月21日付けで独立行政法人国立成育医療研究センターから申請のあったヒト幹細胞臨床研究実施計画（対象疾患：重症虚血肢）について、申請者からの提出資料を基に、指針への適合性に関する議論が行われた。

各委員からの疑義・確認事項については、事務局で整理の上申請者に確認を依頼することとし、その結果を基に再度検討することとした。

（本審査委員会からの主な疑義・確認事項）

4. CPCについて

- 汚染防止に配慮して、各部の室圧についてはもう少し検討が必要と思われます。特に脱衣を行う後室は、汚染を拡散させないように強い陰圧とすべきです。
 - 「ご指摘のように、大きな差圧を設定してより強固な封じ込めを行うことがよいとは思いますが、当センターでは、感染性物質を扱わないことから、現申請内容の室圧設定でも十分にCPCとしての機能を果たすと考えております。」との返答を得た。
- 更衣の順番で「①手袋、②マスク、③ヘヤーキャップ」とされているが、この手順だと最初に装着した手袋が顔や頭髮に接触する可能性もあるので、マスクやヘヤーキャップを装着した後で手袋を装着するほうが望ましい。また、手袋を装着してから床の清掃などを行うので、細胞操作室で目的の作業を行う直前には手術用の滅菌された手袋に交換すべきである。
 - 「更衣の順番を変更いたします。また、細胞操作をする直前には、手袋を交換（滅菌済み）するような手順に変更いたします。」との返答を得た。

3) 第3回審議

①開催日時： 平成25年3月27日(水) 17:00~19:30

(第25回 ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会)

②議事概要

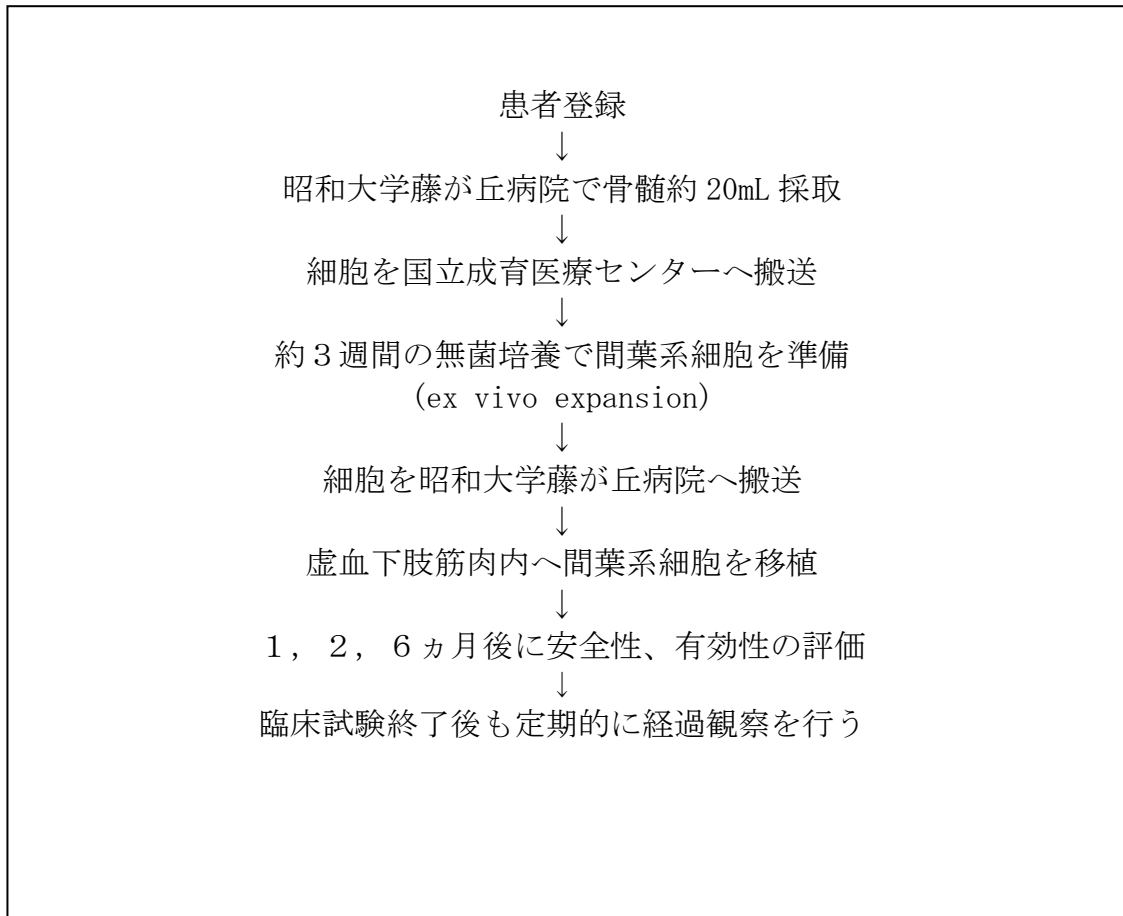
平成24年8月21日付けで独立行政法人国立成育医療研究センターから申請のあったヒト幹細胞臨床研究実施計画(対象疾患:重症虚血肢)について、申請者から資料が適切に提出されたことを受けて、疑義を提出していただいていた委員との間で審議を行った結果、当該ヒト幹細胞臨床研究実施計画を了承した。

3. ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会の検討結果

独立行政法人国立成育医療研究センターからのヒト幹細胞臨床研究実施計画(対象疾患:重症虚血肢)に関して、ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会は、主として倫理的および安全性等にかかる観点から以上の通り論点整理を進め、本実施計画の内容が倫理的・科学的に妥当であると判断した。

次回以降の科学技術部会に報告する。

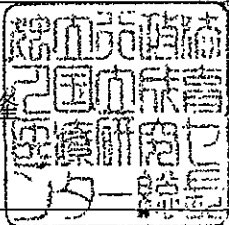
シエーマ



ヒト幹細胞臨床研究実施計画申請書

平成24年 8月2日

厚生労働大臣 殿

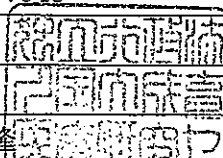
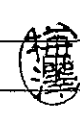
研究機関	所在地	東京都世田谷区大蔵 2-10-1
	名称	独立行政法人国立成育医療研究センター
	研究機関の長 役職名・氏名	総長・五十嵐 隆 

下記のヒト幹細胞臨床研究について、別添のとおり実施計画書に対する意見を求めます。

記

ヒト幹細胞臨床研究の課題名	研究責任者の所属・職・氏名
自己骨髄間葉系細胞移植による末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病・膠原病）への血管再生治療	独立行政法人 国立成育医療研究センター 研究所再生医療センター・センター長 梅澤 明弘

ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

臨床研究の名称		自己骨髄間葉系細胞移植による末梢動脈疾患(慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病・膠原病)への血管再生治療		
研究機関				
	名称	独立行政法人国立成育医療研究センター		
	所在地	〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1		
	電話番号	03-3416-0181		
	FAX 番号	03-5494-7048		
研究機関の長				
	役職	総長		
	氏名	五十嵐 隆  印		
研究責任者				
	所属	独立行政法人国立成育医療研究センター研究所再生医療センター		
	役職	研究所副所長 兼 再生医療センター長		
	氏名	梅澤 明弘 		
	連絡先	Tel/Fax	Tel : 03-3416-0181 /Fax : 03-5494-7048	
		E-mail	umezawa@nch.go.jp	
	最終学歴	慶應義塾大学医学部卒業、慶應義塾大学大学院医学研究科卒業		
	専攻科目	病理学		
その他の研究者		別紙1参照		
共同研究機関 (該当する場合のみ記載してください)				
	名称	昭和大学藤が丘病院		
	所在地	〒227-8501 神奈川県横浜市青葉区藤が丘 1-30		
	電話番号	045-971-1151		
	FAX 番号	045-974-4641		
共同研究機関の長 (該当する場合のみ記載してください)				
	役職	昭和大学藤が丘病院長		
	氏名	真田 裕		
臨床研究の目的・意義		<p>間葉系細胞は骨髄から分離することができ、かつ比較的容易に大量培養が可能である。従って患者から得た少量の骨髄細胞から治療に必要な量の間葉系細胞を得ることができる。近年、間葉系細胞は心筋細胞や血管内皮細胞に分化することや複数の血管新生因子を分泌することが報告され、我々はラット下肢虚血モデルを用いて間葉系細胞移植による虚血下肢血流改善効果</p>		

を確認した。今回、細胞培養を依頼する施設（国立成育医療研究センター研究所）では以前から無菌培養施設を利用してヒト間葉系細胞の培養を行い、間葉系細胞移植の臨床試験を行ってきたが、主立った副作用は出現していない。以上より、同施設で培養した細胞を人へ移植することの安全性はほぼ確立されているが、この細胞を用いた末梢動脈疾患患者に対する細胞移植治療の有効性および安全性は確立されていない。また、心血管病症例の骨髄間葉系細胞の培養増殖能には個人差があることが分かってきた。画一化した細胞移植治療の確立のためには、各症例における骨髄間葉系細胞の細胞機能解析を行い病態との関係・細胞移植治療効果との関係を明らかにする必要がある。

本研究の目的は、1) 末梢動脈疾患患者から採取した骨髄細胞を用いて間葉系細胞を国立成育医療研究センター研究所で大量培養すること、2) 同施設で培養した間葉系細胞を昭和大学藤が丘病院において末梢動脈疾患患者の虚血下肢筋肉内へ移植し、下肢虚血改善効果および安全性を検討する、3) 採取した間葉系細胞と血清の一部を用いて増殖分化能、血管再生能、細胞表面抗原を調べることで細胞の機能評価を行い、病態との関係・細胞移植治療効果との関係を検討する。

臨床研究の対象疾患

<p>名称</p>	<p>重症末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病・膠原病）により QOL が阻害され、血行再建術不適応もしくは血行再建術のみでは十分な効果が得られないと考えられる安静時疼痛、皮膚潰瘍または重度の間欠性跛行を示す患者</p>
<p>選定理由</p>	<p>末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病）の患者は、間欠性跛行、安静時疼痛、下肢の組織傷害（皮膚潰瘍・壊死）などの臨床症状を呈す。下肢の末梢血管病変が進行し、筋肉及び皮膚組織の虚血症状を有する患者に対しては、①保存的な運動療法を含むリスクファクター除去、②薬物療法（血管壁ならびに血小板に作用する薬剤）、③カテーテルによる血管拡張術やステント留置術及び④自家静脈や人工血管をグラフトとして用い外科的に血行を再建する方法などが選択され治療に用いられている。しかしながら、末梢病変やびまん性病変に対しては現在のところ、これらのカテーテルによる血管拡張術やバイパス術などの血行再建術を行っても確実な効果は得られない。さらに血行再建術も不可能な症例が多く、薬物治療の効果もなく肢趾切断となる患者が後を絶たない。</p> <p>間葉系細胞は骨髄に存在し、血液ができるために必要な場を</p>

		<p>提供している間質細胞である。近年、この間葉系細胞の中には多分化能を有する幹細胞が存在し、脂肪及び骨、神経、心筋、血管に分化することが明らかとなってきた。骨髄中に存在する間葉系細胞の数は非常に少ない。しかし、間葉系細胞は日常診療で行われている骨髄穿刺により容易に分離・培養・増幅することが可能であり、従って患者から得た少量の骨髄液から治療に必要な量の間葉系細胞を培養することにより得ることができる。この方法では自己細胞を用いるため、拒絶反応を避けることができ、また倫理的な問題が生じる余地も限られる。そのため本研究の対象疾患として選定した。</p>						
被験者等の選定基準		<p>【選択基準】</p> <p>①患者本人から文書による同意が得られること。 ②同意取得時の満年齢が 20 歳以上の者 ③血管造影により、投与対象肢の浅大腿動脈、膝窩動脈または膝窩動脈以下に閉塞または狭窄部位があり、その閉塞・狭窄に起因する安静時疼痛、皮膚潰瘍または重度の間欠性跛行を有している者 ④投与対象肢に対して一般に血行再建術不適應もしくは血行再建術のみでは十分な効果が得られないと考えられるもの</p> <p>【除外基準】:以下の基準に1つでも該当する症例は除外とする</p> <p>①悪性腫瘍を有する患者 ②同意日 2 ヶ月以内に急性心筋梗塞、不安定狭心症、心筋炎、脳梗塞に罹患した患者 ③活動性の感染症を有する患者 ④妊婦または妊娠している可能性のある患者 ⑤増殖糖尿病網膜症（未治療の増殖網膜症、中期・晩期増殖網膜症）を有する者(治療終了例は除く) ⑥その他、担当医師が不適當と判断した患者</p>						
臨床研究に用いるヒト幹細胞								
	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="244 1585 403 1635">種類</td> <td data-bbox="403 1585 603 1635">自己骨髄間葉系細胞</td> </tr> <tr> <td data-bbox="244 1635 403 1684">由来</td> <td data-bbox="403 1635 603 1684">自己・非自己・株化細胞 生体由来・死体由来</td> </tr> <tr> <td data-bbox="244 1684 403 2024">採取、調製、移植又は投与の方法</td> <td data-bbox="403 1684 603 2024"> <p>臨床試験の方法</p> <p>a)骨髄液と末梢血の採取（昭和大学藤が丘病院で施行） 患者自身の骨髄（20ml～40mL）を局所麻酔下に腸骨 3～6カ所より採取し、ヘパリン入り PBS 溶液に混和する。</p> <p>b)骨髄液と末梢血の搬送: 検体は採取後すみやかに冷蔵し自動車で国立成育医療研究センターへ搬送する（所要時間 約 30分）。</p> </td> </tr> </table>	種類	自己骨髄間葉系細胞	由来	自己・非自己・株化細胞 生体由来・死体由来	採取、調製、移植又は投与の方法	<p>臨床試験の方法</p> <p>a)骨髄液と末梢血の採取（昭和大学藤が丘病院で施行） 患者自身の骨髄（20ml～40mL）を局所麻酔下に腸骨 3～6カ所より採取し、ヘパリン入り PBS 溶液に混和する。</p> <p>b)骨髄液と末梢血の搬送: 検体は採取後すみやかに冷蔵し自動車で国立成育医療研究センターへ搬送する（所要時間 約 30分）。</p>	
種類	自己骨髄間葉系細胞							
由来	自己・非自己・株化細胞 生体由来・死体由来							
採取、調製、移植又は投与の方法	<p>臨床試験の方法</p> <p>a)骨髄液と末梢血の採取（昭和大学藤が丘病院で施行） 患者自身の骨髄（20ml～40mL）を局所麻酔下に腸骨 3～6カ所より採取し、ヘパリン入り PBS 溶液に混和する。</p> <p>b)骨髄液と末梢血の搬送: 検体は採取後すみやかに冷蔵し自動車で国立成育医療研究センターへ搬送する（所要時間 約 30分）。</p>							

		<p>c)細胞培養（国立成育医療研究センターで施行） 15%牛胎児血清入りの液体培地を調整する。通常の動物実験で用いられるさまざまな添加物（growth factor など）は一切使用しない。この培地に上記の骨髄を添加して約3週間の培養を行い、最後に自己血清で洗浄する。以上の操作により、治療に必要な数の骨髄間葉系細胞が得られる。最後に搬送当日に培養細胞をフラスコより剥離しPBSに懸濁させる。</p> <p>d)細胞の保存：細胞移植後に感染症が起こった場合の原因検索のために、厚生労働省の指針に従い採取した細胞および培養で得られた細胞の一部を5年間保存する。また、冷凍保存された細胞の一部を用いて増殖分化能を調べ細胞機能評価を行う。</p> <p>e)細胞及び血清の機能解析： A) 細胞の増殖活性測定、B) 細胞の表面抗原の解析、C) サイトカイン測定、D)動物実験を行う。 A) 採取した細胞を、牛胎児血清を用いて培養し自己血清を用いた場合との増殖能の比較検討を行う。また単一クローン骨髄間葉系細胞を患者血清で培養する。 B) 細胞膜に存在する種々の抗原（例えば CD 抗原）を、これらに対応する抗体を用いて解析ならびに細胞の採取をセルソーター等の機械を用いて行う。 C) 細胞から分泌されるサイトカイン、患者血清中のサイトカインを測定する：VEGF, bFGF, HGF, AMなどをELISAやRIAを用いて測定する。 D) 細胞の生体内での機能を評価するため、培養した細胞の小動物への移植実験を行う。</p> <p>f)間葉系細胞の搬送：検体は採取後すみやかに冷蔵し自動車で昭和大学藤が丘病院へ搬送する（所要時間 約30分）。</p> <p>g)細胞移植（昭和大学藤が丘病院で施行） 搬送された間葉系細胞は即座に移植される。被験者に全身麻酔下に搬送した間葉系細胞を虚血側の下肢に筋肉内注入する。具体的には $1.1 \times 10^{7-8}$、総量約 10-50ml の懸濁液を、下腿は一か所につき 0.5ml、足関節以下は一か所につき 0.3ml を27G針を用いて40～50ヶ所に分割して筋肉内に注入する。</p>
調製（加工）工程		有・無
非自己由来材料使用		有・無 動物種（ウシ）
複数機関での実施		有・無
他の医療機関への授与・販売		有・無

<p>安全性についての評価</p>	<p>安全性及び機能評価</p> <p>細胞移植 1, 2, 6 ヶ月後に機能評価を行う。安全性の評価は随時行い、本臨床試験終了後も定期的に経過観察を行う。</p> <p>有害事象（投与対象肢の切断を含む）、副作用、臨床検査値</p> <p>安全性の評価項目</p> <p>a) 有害事象</p> <p>有害事象が発生したときには、担当医師は速やかに研究責任者へ有害事象名、細胞移植日、発現日、処置、記載時の転帰らに関して報告する。研究責任者が臨床試験の継続が困難と判断した場合は、試験を中止とする。研究責任者は細胞移植との因果関係等に関して調査し、可能な限り、回復まで追跡調査を行う。</p> <p>安全性評価のための臨床検査：</p> <p>①血液生化学的検査：治療前、細胞移植翌日、第 1 週目、2 週目、1 ヶ月後、2 ヶ月後、6 ヶ月後に行う。必要時には、随時検査を施行する。</p> <p>②眼底検査：治療前、細胞移植 1 ヶ月後、6 ヶ月後に行う。</p> <p>③CT 検査（悪性腫瘍の有無のチェック）：治療前、細胞移植 2 ヶ月後、6 ヶ月後に行う。</p> <p>④病理解剖：被験者死亡時には原因検索のために可能な限り病理解剖を行うことを、同意取得時に被験者および家族に対して説明する。</p>
<p>臨床研究の実施が可能であると判断した理由</p>	<p>近年成人の骨髄及び末梢血単核球中に血管内皮細胞に分化しうる血管内皮前駆細胞が存在することが報告された。また骨髄由来単核細胞移植は下肢虚血及び心筋虚血動物モデルにおいて、血管新生や側副血行路の発達により下肢血流量増加作用や心機能改善作用を発揮することが確認された。自己骨髄単核球を用いた細胞移植治療は臨床試験が 50 例以上の症例で行われ、重篤な副作用はみられず(軽い発熱や術後疼痛はあるとのこと)、良好な結果と報告されている。</p> <p>しかしながら、骨髄単核球移植による治療は多量の骨髄液採取を必要とし侵襲が大きく、また我々の検討では、新鮮分離細胞のため骨髄細胞中の幹・前駆細胞量に個人差があり臨床効果に差が出るのが明らかとなった。</p> <p>間葉系細胞は骨髄に存在し、血液ができるために必要な場を提供している間質細胞である。近年、この間葉系細胞の中には多分化能を有する幹細胞が存在し、脂肪及び骨、神経、心筋、血管に分化することが明らかとなってきた。骨髄中に存在する</p>

	<p>間葉系細胞の数は非常に少ない。しかし、間葉系細胞は日常診療で行われている骨髄穿刺により容易に分離・培養・増幅することが可能であり、従って患者から得た少量の骨髄液から治療に必要な量の間葉系細胞を培養することにより得ることができ、この方法では自己細胞を用いるため、拒絶反応を避けることができ、また倫理的な問題が生じる余地も限られる。近年、我々はブタ慢性心筋虚血モデルにおいて、間葉系細胞移植は血管新生を促すことにより心機能を回復することを示した。また、ラット下肢虚血モデルにおいても間葉系細胞移植は血管再生を促進し下肢虚血を改善することを明らかにした。従って本研究により、間葉系細胞を用いた血管の再生、下肢虚血改善効果が証明されれば、既存の治療とは異なった新たな末梢動脈閉塞症に対する治療の開発につながる可能性がある。</p>
臨床研究の実施計画	添付資料参照。
被験者等に関するインフォームド・コンセント	
手続き	<p>同意取得の時期と方法</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.臨床試験実施責任医師は説明文書を用いて、十分に本臨床試験についての説明を行い、被験者に検討する十分な時間を与えた上で、被験者の自由意思による文書同意を取得する。 2.同意文書には、説明を行った臨床試験実施責任医師が署名または記名・捺印し、日付を記入する。また、臨床試験協力者が補足的な説明を行った場合には、当該臨床試験協力者も署名または記銘・捺印し、日付を記入する。 3.同意は骨髄採取時、細胞移植時にも取得する。 4.臨床試験実施責任医師は同意文書を保存する。 5.説明文書と同意文書（写し）を被験者に渡す。 <p>同意書は昭和大学藤が丘病院循環器内科で取得される。当研究</p>

		室に送られてきた骨髄細胞は採取された患者本人に移植するため、連結可能匿名化されている。
	説明事項	添付資料参照。
単独でインフォームド・コンセントを与えることが困難な者を被験者等とする臨床研究の場合		
	研究が必要不可欠である理由	
	代諾者の選定理由	
被験者等に対して重大な事態が生じた場合の対処方法		<p>重篤な有害事象が発現した場合の対応</p> <p>1)臨床試験実施責任医師は、骨髄採取や細胞移植の時に発症する可能性のある有害事象に備え、人工呼吸装置やエピネフィリン、ノルエピネフィリンなどの緊急用薬剤を手元に備えておく。</p> <p>2)臨床試験実施場所である昭和大学藤が丘病院のスタッフは、適宜そのサポートにあたるものとする。</p> <p>3)臨床試験責任医師は、実施機関の長、昭和大学医の倫理委員会にその情報を速やかに報告する。</p>
臨床研究終了後の追跡調査の方法		臨床研究後は外来通院によって2カ月～3カ月に1度の経過観察を行う。
臨床研究に伴う補償		
	補償の有無	<input checked="" type="checkbox"/> 有・無
	補償が有る場合、その内容	<p>本臨床試験の実施に起因して被験者に何らかの健康被害が発生した場合は、迅速かつ適切な治療を受けることができる。</p> <p>提供される治療には健康保険を適用する。また本試験に起因する重度な健康被害に備え、臨床研究保険に加入する。</p>
個人情報保護の方法		
	連結可能匿名化の方法	<p>本研究への参加は対象者の自由意思により決定され、同意しない場合においても治療内容も含め、いかなる不利益を被ることもない。個人情報の保護のため、検体（血液および摘出組織）および臨床情報は個人情報管理責任者が連結可能匿名化する。すなわち、検体および臨床情報から個人を識別できる情報（氏名、住所、生年月日、電話番号など）を削除し、独自の記号を付したのち、国立成育医療研究センター研究所再生医療センターへ送付する。</p> <p>個人情報管理責任者：佐藤督忠(昭和大学藤が丘病院・循環器内科講師)</p> <p>添付資料参照。</p>

その他	<p>・ 試料と臨床情報、解析結果の保存、管理法。</p> <p>個人情報管理責任者は個人と記号の対応表を昭和大学藤が丘病院循環器内科のコンピューターを用いて移動媒体内に保存する。試料は国立成育医療研究センター研究所再生医療センターで冷凍保存され、臨床情報と解析結果は各施設内の外部から切り離されたコンピューター内に保存される。国立成育医療研究センター研究所再生医療センターではすべての情報はセンター長梅澤明弘が管理する。同意はいつでも撤回できることを保証し、同意撤回時には本人の検体、臨床情報全て匿名化されたまま廃棄され、個人情報管理責任者が保存している対応表から除かれる。</p> <p>・ 試料（資料）の保存。</p> <p>全ての試料と情報は、細胞移植後に感染症が起こった場合の原因検索、および将来の別の研究に使用する計画があるため、そのことに関して本人の同意を得る。同意が得られた場合にのみ、試料（資料）を5年間保存する。臨床資料は昭和大学藤が丘病院循環器内科（管理責任者：鈴木 洋）で保存し、細胞は国立成育医療研究センター（管理責任者：梅澤明弘）で適切な方法で管理する。将来の別の研究を実施する前には昭和大学医の倫理委員会に申請し審査を受ける。また、同意後も本人からの同意撤回があれば直ちに試料と情報を廃棄する。</p> <p>添付資料参照。</p>
<p>その他必要な事項 (細則を確認してください)</p>	<p>① 当該研究に係る研究資金の調達方法</p> <p>本治療に関わる入院費用、細胞培養に関連する費用については昭和大学藤が丘病院循環器内科、国立成育医療センター再生医療センターの研究費から支出される。なお、この研究による被験者への交通費、謝金等の支給は行わない。</p> <p>② 既に行われているヒト幹細胞臨床研究と比較して新規性が認められる事項</p> <p>自己骨髄間葉系細胞移植による再生治療は、国内での報告が複数されているが、今回の臨床研究では培養過程があり、末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病・膠原病）に対する自己間葉系細胞の培養細胞移植による治療は新規性がある。</p>

備考1 各用紙の大きさは、日本工業規格 A4 とすること。

備考2 本様式中に書ききれない場合は、適宜別紙を使用し、本様式に「別紙○参照」と記載すること。

添付書類（添付した書類にチェックを入れること）

- 1.研究者の略歴及び研究業績
- 2.臨床研究の実施計画
- 3.インフォームド・コンセントにおける説明文書及び同意文書様式
- 4.研究機関の基準に合致した研究機関の施設の状況（別紙）
- 5.臨床研究に用いるヒト幹細胞の品質等に関する研究成果
- 6.同様のヒト幹細胞臨床研究に関する内外の研究状況
（昭和大学申請に関わる部分のため省略）
- 7.臨床研究の概要をできる限り平易な用語を用いて記載した要旨
- 8. CPC 関連書類
- 9.自己骨髄間葉系細胞製品標準書
 - （手順 1）骨髄採取手順書
 - （手順 2）血清採取手順書
 - （手順 3）骨髄搬送手順書
 - （手順 4）血清搬送手順書
 - （手順 5）血清非働化手順書
 - （手順 6）培地調整手順書
 - （手順 7）検体搬入・細胞播種手順書
 - （手順 8）培地交換手順書
 - （手順 9）細胞継代手順書
 - （手順 10）細胞回収手順書
 - （手順 11）検体(細胞)搬送手順書
 - （手順 12）自己骨髄間葉系細胞移植手順書
- 10.試料及び個人情報の流れ
 - 血清、骨髄及び自己骨髄間葉系細胞の搬送実地記録
- 11.撤回に関する手続き
- 12.逸脱管理手順書
- 13 重篤な有害事象が発生した場合の対応手順
- 14 倫理委員会関係資料

平易用語要旨

本臨床研究は末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病）の患者本人の骨髄から間葉系幹細胞を採取し体の外で数を増やし、虚血下肢の筋肉内に移植し下肢虚血が改善するかどうかを確認することを目的としている。

末梢動脈疾患（慢性閉塞性動脈硬化症・バージャー病）の患者は、間欠性跛行、安静時疼痛、下肢の組織傷害（皮膚潰瘍・壊死）などの臨床症状を呈す。下肢の末梢血管病変が進行し、筋肉及び皮膚組織の虚血症状を有する患者に対しては、①保存的な運動療法を含むリスクファクター除去、②薬物療法（血管壁ならびに血小板に作用する薬剤）、③カテーテルによる血管拡張術やステント留置術及び④自家静脈や人工血管をグラフトとして用い外科的に血行を再建する方法などが選択され治療に用いられている。しかしながら、末梢病変やびまん性病変に対しては現在のところ、これらのカテーテルによる血管拡張術やバイパス術などの血行再建術を行っても確実な効果は得られない。さらに血行再建術も不可能な症例が多く、薬物治療の効果もなく肢趾切断となる患者が後を絶たない。

一方、近年成人の骨髄及び末梢血単核球中に血管内皮細胞に分化しうる血管内皮前駆細胞が存在することが報告された。また骨髄由来単核細胞移植は下肢虚血及び心筋虚血動物モデルにおいて、血管新生や側副血行路の発達により下肢血流量増加作用や心機能改善作用を発揮することが確認された。自己骨髄単核球を用いた細胞移植治療は臨床試験が50例以上の症例で行われ、重篤な副作用はみられず(軽い発熱や術後疼痛はあるとのこと)、良好な結果と報告されている。

しかしながら、骨髄単核球移植による治療は多量の骨髄液採取を必要とし侵襲が大きく、また我々の検討では、新鮮分離細胞のため骨髄細胞中の幹・前駆細胞量に個人差があり臨床効果に差が出ることが明らかとなった。

近年、間葉系幹細胞の中には多分化能を有する幹細胞が存在し、脂肪及び骨、神経、心筋、血管に分化することが明らかとなってきた。

骨髄中に存在する間葉系幹細胞の数は非常に少ない。しかし、間葉系幹細胞は日常診療で行われている骨髄穿刺により容易に分離・培養・増幅することが可能であり、従って患者から得た少量の骨髄液から治療に必要な量の間葉系幹細胞を培養することにより得ることができる。この方法では自己細胞を用いるため、拒絶反応を避けることができ、また倫理的な問題が生じる余地も限られる。

近年、我々はブタ慢性心筋虚血モデルにおいて、間葉系幹細胞移植は血管新生を促すことにより心機能を回復することを示した。また、ラット下肢虚血モデルにおいても間葉系幹細胞移植は血管再生を促進し下肢虚血を改善することを明らかにした。

今回、細胞培養を依頼する施設（国立成育医療研究センター研究所）では以前より無菌培養施設を利用してヒト間葉系幹細胞の培養を行い、間葉系幹細胞移植の臨床試験を行っ

てきたが、主立った副作用は出現していない。以上より、同施設で培養した細胞を人へ移植することの安全性はほぼ確立されているが、この細胞を用いた末梢動脈疾患患者に対する細胞移植治療の有効性および安全性は確立されていない。また、心血管病症例の骨髄間葉系幹細胞の培養増殖能には個人差があることが分かってきた。画一化した細胞移植治療の確立のためには、各症例における骨髄間葉系幹細胞の細胞機能解析を行い病態との関係・細胞移植治療効果との関係を明らかにする必要がある。

従って本研究により、間葉系幹細胞を用いた血管の再生、下肢虚血改善効果が証明されれば、既存の治療とは異なった新たな末梢動脈閉塞症に対する治療の開発につながる可能性がある。